EVALUATION DE LA TOXICITÉ AIGUË

Dr MEGUEDDEM.M

PLAN

EVALUATION DE LA TA D'UN PRODUIT :

I/ Essais de TA in vivo (Systémique + Locale)

II/ Méthodes alternatives in vitro

III/ Etudes théoriques

IV/ Etudes humaines

V/ Etudes épidémiologiques

FACTEURS INFLUANÇANT LA TOXICITÉ

INTÉRÊT DE L'EVALUATION DE LA TA

CONCLUSION

EVALUATION DE LA TOXICITÉ AIGUE (TA) D'UN PRODUIT

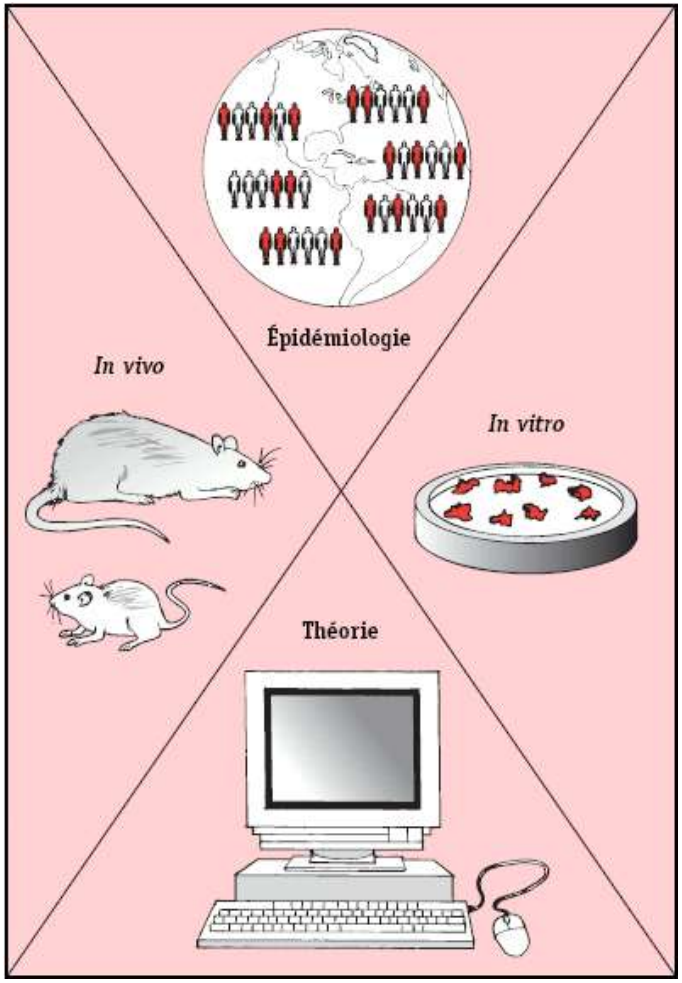
C’est une étude **qualitative** et **quantitative** des phénomènes toxiques résultant d’une administration **unique** d’un xénobiotique. **C**ette étude comprend **:**

❖ **Etudes expérimentales in vivo (Essais de TA systémique et locale)** : qui utilisent des animaux.

❖ **Etudes expérimentales in vitro (Méthodes alternatives in vitro)**: effectuées sur des cultures de tissus ou de cellules.

❖ **Etudes théoriques par modélisation** ---> structure-activité

❖ **Etudes épidémiologiques** : qui comparent plusieurs groupes d’individus



I/ ESSAIS DE TA (IN VIVO)

- En toxicologie expérimentale, les Essais de Toxicité Aiguë sont les plus couramment utilisés, et consistent à **administrer une dose unique de la substance étudiée** afin d'apprécier **les symptômes de l'intoxication** ainsi que **la dose toxique**.
- ***But*** : ***Appréciation du risque potentiel d'une substance nouvelle.***
- Ils Diffèrent selon la voie d'administration de la substance à tester : **Essais de TA Systémique et Locale**

- La TA d'un corps est exprimée par sa dose en mg/kg nécessaire pour tuer 50% des animaux d'expérience : **DL_{50} (Dose Létale 50) : Indicateur quantitatif** de la toxicité d'une substance qui mesure **la dose d'une substance** causant **la mort** de **50 %** d'une population animale donnée.
- S'il s'agit d'une substance **inhalée**, on parle de **CL_{50} Concentration Létale 50** qui exprime la concentration de la substance dans l'air inspiré causant **la mort** de **50 %** des animaux. Exprimée en $mg \cdot min/m^3$

NB :

- En **Toxicologie Clinique** les qualificatifs «**Aigu**» et «**Chronique**» sont utilisés pour décrire **l'intensité** et la **rapidité d'apparition des symptômes**.
- En **Toxicologie Expérimentale**, le qualificatif « **Aigu** » est synonyme de **toxicité par administration unique pendant une courte période de temps** et le qualificatif « **Chronique** » est synonyme de **toxicité par administration réitérée pendant une période allant de 06 mois à 02 années.**

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée de l'exposition
AIGUË	Unique	< 24 heures
SUBAIGUË	Répétée	<= 1 mois
SUBCHRONIQUE	Répétée	de 1 à 3 mois
CHRONIQUE	Répétée	> 3 mois

I.1/ ESSAIS DE TA SYSTÉMIQUE:

I.1.1. Détermination de la DL50

A) Protocole Expérimental

1- Spécificité du produit :

- La substance à tester doit être parfaitement définie par elle-même et par les impuretés qu'elle peut contenir.
- La toxicité est définie sur le produit fini.
- L'excipient est testé de la même façon que la substance mère.
- Si le produit fini contient plusieurs excipients, il faut les tester séparément puis en association.
- Evaluer les produits de dégradation, soit au cours du stockage ou du métabolisme.

2- Animaux :

- **Critères de choix :** proximité phylogénique, anatomique et physiologique ; espèce disponible ; de manipulation facile ; de maintenance aisée et de taille convenable ; risque d'anthropozoonose quasi nul. Animaux des 2 sexes, jeunes et âgés.

- **L'essai est pratiqué sur 05 à 06 lots d'animaux**, généralement le rat (ou la souris), comportant autant de mâles que de femelles + **Lots témoins.**
- **Le choix du nombre est également important permettant :**
  - Une exploration statistique
  - Une détermination de la zone d'innocuité

- Mise en évidence de l'organe cible en fonction de la dose
- Estimation du temps d'apparition des effets indésirables

- **Les lots sont constitués de 10 animaux identiques** sur les plans espèce, souche ou origine, sexe ,âge et poids .

- **Chaque animal d'un même lot reçoit une dose identique et unique** de la substance à tester, mais la dose administrée est différente d'un lot à l'autre afin que le % de mortalité puisse varier entre 0 et 100.

- **Une espèce autre que les rongeurs est quelques fois nécessaire** lorsque les valeurs pour le rat (ou la souris) sont différentes, ou bien, lorsque le schéma métabolique est différent de celui observé chez l'homme.

3- Animalerie :

- Doit respecter un certain nombre de critères :

  - ✓ ***Facteurs physiques*** **:** T° convenable, lumière constante, humidité optimale, etc.
  - ✓ ***Facteurs chimiques*** **:** éloigner les désinfectants, et les détergents.
  - ✓ ***Facteurs microbiens*** **:** conserver tous les vecteurs et les supports de germes loin des animaux.

4- Administration :

- ***Voie d'administration :***
  - Celle utilisée en clinique (**Médicaments**) ou;
  - Celle par laquelle la substance pourrait pénétrer dans l'organisme (**Produits Chimiques**).

Choisir au moins deux voies pour la détermination de la DL_{50}

- ***Moment d'administration :*** variable en fonction de la chronobiologie.
- ***Concentration :*** doit être connue de la façon la plus précise : p/p ou p/v
- ***Vitesse d'administration :*** doit être constante.

5- Observations :

- Doivent être régulières et très attentives.
- Il faut noter tout signe de toxicité, le moment de leur apparition, leur gravité, leur durée + pesée quotidienne de l'Animal.

Au cours d'un Essai de TA, les animaux sont observés pendant 14 j

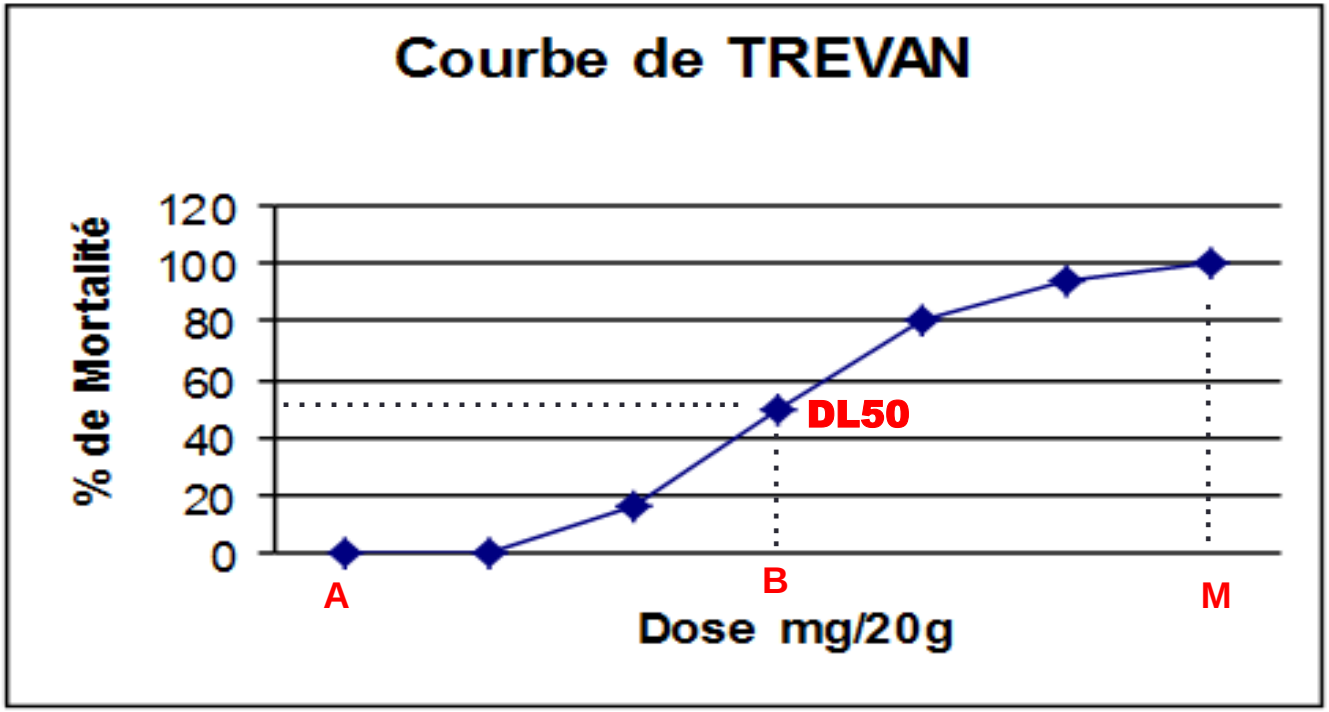
6- Explorations :

- ***Une Exploration Biologique*** **:** avant de commencer tout essai de TA sur animaux, il faut faire d'abord des examens biochimiques et hématologiques qui nous renseignent sur l'état de santé de ces animaux. Les examens sont répétés à intervalle régulier durant l'étude de la toxicité**.**
- ***Une Exploration Anatomo-histologique*** **:** tous les animaux **morts en cours** d'essai et ceux **sacrifiés en fin d'essai** feront l'objet d'une autopsie qui permettra de rechercher d'éventuelles conséquences lésionnelles.

B) Calcul de la DL50

La 1ère étude expérimentale de la toxicité aiguë fut réalisée par **TREVAN en 1927**, en administrant ***par voie I.V*** du ***chlorhydrate de cocaïne*** à des ***Souris***.
Les résultats obtenus furent les suivants:

Dose en mg/souris 20g	Mort.	% Mort.
0,3	0/20	0%
0,4	5/30	16%
0,5	26/50	50%
0,6	24/30	80%
0,7	20/24	94%
0,8	20/20	100%



TREVAN établi une courbe de forme sigmoïde en traçant le % de mortalité en fonction de la Dose administrée.

- **<u>Zone 0A</u>: zone Sans Aucun Effet.**
- **<u>Zone 0B</u>: 50% des Animaux d'expérience sont affectés.**
- **<u>Zone 0M</u>: 100% des Animaux d'expérience sont affectés (Zone mortelle).**

Courbe de TREVAN

- Dans **la zone AM**, le % d'Animaux réagissant augmente avec la dose et c'est dans la partie médiane de la courbe « B », que la plus petite variation de dose détermine la plus grande variation de % de mortalité.

Pour cette raison, la dose produisant 50% de résultats positifs (DL_{50}) est la plus adaptée dans l'évaluation de la Toxicité Aigue d'un Produit.

Courbe de TREVAN

- **Inconvénients**:

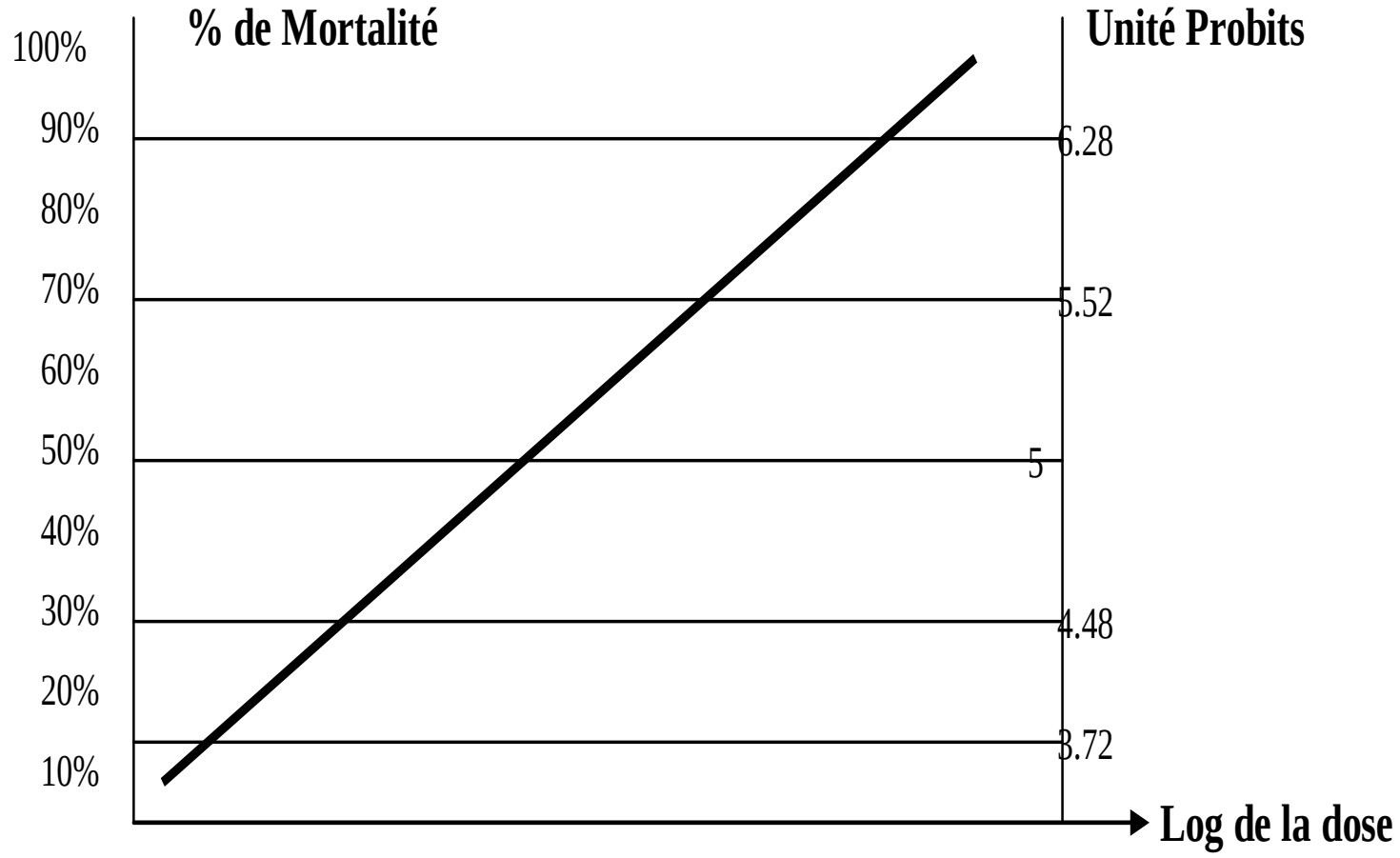
➢ **C**ourbe de **Fréquence Cumulée**, une intégrale de la courbe de GAUSS (Courbe en Cloche) **:**

Cela signifie que **pour une dose déterminée**, le pourcentage de mortalité obtenu correspond non seulement aux animaux sensibles à cette dose mais également, à toutes les doses inferieures.

➢ **N**écessite un nombre élevé d'animaux d'expérience (6 à 7 points pour tracer la courbe). **30 animaux** par **dose** constituent un minimum selon TREVAN.

➢ **L**a dose létale est obtenue par calcul statistique.

Pour rendre cette courbe rectiligne, **BLISS en 1934** a proposé une échelle spéciale pour les pourcentages de mortalité appelée échelle **" Probits".**



Courbe de TRAVAN d'après BLISS

Courbe de TRAVAN d'après BLISS

- Le pourcentage de mortalité est remplacé par les **Probits** et la dose par **Log dose**.

➢ Les unités Probits correspondent à des écart types réguliers et constants.

➢ Pour éviter des nombres négatifs, les unités Probits sont obtenues en ajoutant 5 à ses valeurs :

Probits = écart type + 5

- **<u>Avantage</u> :**

➢ Assez précise

➢ Il faut moins de points pour l'élaborer

I.2/ Essais de TA Locale (Test de Draize)

- ***But*** **:** Identification des produits irritants **(Test d'irritation)**

→Application sur la peau d'un Lapin (irritation cutanée)

→ Introduction dans le sac conjonctival de son œil (irritation oculaire)

Des réactions caractéristiques (rougeur, urticaire….)

- L'évaluation permet de classer les substances en **5 groupes** selon le pouvoir irritant :

1) Non irritant
2) Faiblement irritant
3) Modérément irritant
4) Fortement irritant
5) Extrêmement irritant

Test de Draize

INCONVÉNIENTS :

- **L**e parallélisme entre la réponse de la peau humaine, et celle du lapin est loin d'être parfaite, surtout lorsque la peau a été préalablement scarifié.
- **L**es essais inter laboratoires ont révélé une incertitude considérable vis-à-vis de la classification.

II/ MÉTHODES ALTERNATIVES (IN VITRO)

• Le mot **alternative** est utilisé pour décrire toute modification aux procédures scientifiques établies qui a pour résultat :

- **Le remplacement** de l'utilisation des animaux ;
- **La réduction** du nombre d'animaux utilisés ;
- **Le raffinement** des techniques qui peuvent réduire la douleur chez les animaux.

→ **Règle des 3R**

II/ MÉTHODES ALTERNATIVES (IN VITRO)

- **L**es méthodes alternatives basées sur **des cultures cellulaires** sont les plus utilisées.
- **L**eur intérêt principal est d'offrir la possibilité **d'utiliser des cellules humaines** ce qui permet a priori une **extrapolation plus pertinente** des résultats à l'Homme

Limites des méthodes alternatives

- **L**es cellules en culture ne reflètent pas la réalité physiologique.
- **E**lles ne permettent pas d'établir des corrélations précises entre dose et toxicité.

III/ ETUDES THÉORIQUES

On peut par exemple utiliser **LES SYSTÈMES INFORMATIQUES** professionnels pour **prévoir la propriété irritante** de nouvelles substances sur la base de ce qui est déjà connu au sujet des **substances irritantes ayant une structure chimique semblable**

IV/ ETUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

C’est l’étude de l’évolution des maladies ou des décès au sein des populations humaines.

Avantages:

- **Conditions d'exposition réalistes**
- **Effets mesurés chez l'homme.**

Inconvénients:

- **Essais coûteux, et de longue durée;**
- **Études rétrospectives;**
- **Effets difficiles à quantifier**

FACTEURS INFLUENÇANT LA TOXICITÉ

FACT. TOXICOCINETIQUES

1. Facteurs liés au Sujet

- Espèce
- Race
- Age
- Sexe
- Poids
- Susceptibilité individuelle (Tolérance et intolérance)
- Etat physiologique
- Etat pathologique

2. Facteurs liés au Toxique:

- Voie d'administration.
- Nature du véhicule
- Vitesse d'administration

3. Facteurs liés à l'environnement:

T°- lumière – altitude - vent…

FACTEURS TOXICODYNAMIQUES (INTERACTION)

- Synergie: additive, renforçatrice ou potentialisatrice
- Antagonisme
- Induction enzymatique
- Inhibition enzymatique

INTÉRÊT DE L'ÉVALUATION DE LA TA

- **P**ermet la classification des substances chimiques selon leur toxicité relative :
  - Ultra toxique: inferieur à 5mg/kg
  - Extrêmement toxique: 5-50mg/kg
  - Très toxique: 50-500mg/kg
  - Moyennement toxique: 0,5-5g/kg
  - Légèrement toxique: 5-15g/kg
  - Non toxique: supérieur à 15g/kg

- **E**valuation du danger en cas de surdosage.
- **P**rogrammation des études de **Toxicité Subaiguë et Chronique** chez l'homme.
- **A**pport d'informations sur :
  - Les mécanismes de toxicité de la substance,
  - Influence des facteurs toxicocinétiques et dynamiques,
  - Programmation des essais thérapeutiques (Médicaments) chez l'homme,
  - Contrôle de qualité des produits chimiques (impuretés et les modifications affectant la biodisponibilité).

CONCLUSION

- Bien que l'étude de la **TA des différentes substances par expérimentation sur l'animal** soit la méthode la plus employée dans l'investigation toxicologique, elle est critiquée sur le plan éthique en raison de la souffrance des animaux ainsi que la difficulté d'extrapolation des données obtenues avec l'animal à l'homme.

  En effet, il est souvent difficile de déduire à partir des résultats expérimentaux, les doses qui seraient toxiques ou mortelles chez l'homme, d'où **l'extrême prudence** lors de l'extrapolation des résultats obtenus chez l'Animal à l'Homme **:**

- Différence de sensibilité ;
- Différence du point de vu pharmacocinétique ;
- Nombre d'animaux faible / population d'êtres humains susceptible d'être exposé ;
- Certains effets ne peuvent être mis en évidence chez l'animal (céphalées, vertiges, insomnie…..).

- La recherche fondamentale développe et utilise **des méthodes alternatives** basées sur des cultures cellulaires. Leur intérêt principal est d'offrir la possibilité d'utiliser des cellules humaines ce qui permet a priori une **extrapolation plus pertinente** des résultats à l'Homme.